ПАРАЗИТОЛОГИЯ, 24, 6, 1990

УДК 595.122

© 1990

РАЗВИТИЕ МИКРОГЕМИПОПУЛЯЦИИ ПАРТЕНИТ ТРЕМАТОД PHILOPHTHALMUS RHIONICA

Г. Л. Атаев, А. А. Добровольский

Изучена динамика становления микрогемипопуляции трематод *Philophthalmus rhionica* в моллюсках *Melanopsis praemorsa*. В этом процессе выделено 4 периода: миграционный период, период роста, период расселения и, наконец, период зрелости микрогемипопуляции. Обсуждается вопрос о природе так называемого «полового зачатка» материнских редий.

Настоящая работа продолжает серию исследований, посвященных изучению вида *Philophthalmus rhionica*, партениты которого паразитируют в моллюсках *Melanopsis praemorsa*. Ранее были изучены состав микрогемипопуляции и морфология партенит (Тихомиров, 1980), а также особенности их размножения (Добровольский и др., 1983). Полученные данные во многом подтверждали результаты Калилы и Кэйбла (Khalil, Cable, 1968), исследовавших партенит близкого вида *Ph. megalurus*. Однако процесс формирования микрогемипопуляции партенит в моллюске изучен не был.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Моллюски *M. praemorsa* были добыты в реках Западной Грузии: Старая Пичора, Супса, Губисцхали и их притоках. Во время полевых сборов, проводившихся в 1983 и 1986 гг. было собрано 6000 улиток. Из них около 20 % оказались зараженными различными видами сосальщиков. Но только 9 особей было спонтанно заражено редиями *Ph. rhionica*.

Для получения церкарий и метацеркарий моллюсков рассаживали в стеклянные стаканчики. Вышедших личинок отлавливали проволочной петлей и с каплей воды переносили на поверхность глаза кроликов или голубей. Из инфраорбитальной полости глаза, где черви достигали половой зрелости и приступали к продуцированию яиц, последние отмывались при помощи пипетки. Этот методический прием удобен при работе с кроликами. Из глаз голубей марит извлекали с помощью пинцета и помещали в солонку, где происходили массовый выброс яиц и вылупление мирацидиев. Моллюски, одновременно подвергшиеся заражению, составляли одну серию опытов.

Степень «зрелости» микрогемипопуляции определяли при вскрытии зараженных моллюсков. Для этого тело улитки извлекали из раковины и помещали в раствор Рингера для моллюсков. Для изучения морфологии партенит изготовляли влажные препараты и использовали метод фазового контраста. Применялась и люминесцентная микроскопия. Для этого объекты помещали в раствор акридинового оранжевого (разведение 1 : 200 000 на растворе Рингера для моллюсков). Окрашенных редий промывали в физиологическом растворе, а затем изучали в сине-фиолетовых лучах на микроскопе МЛ-2. Гистологию мол-

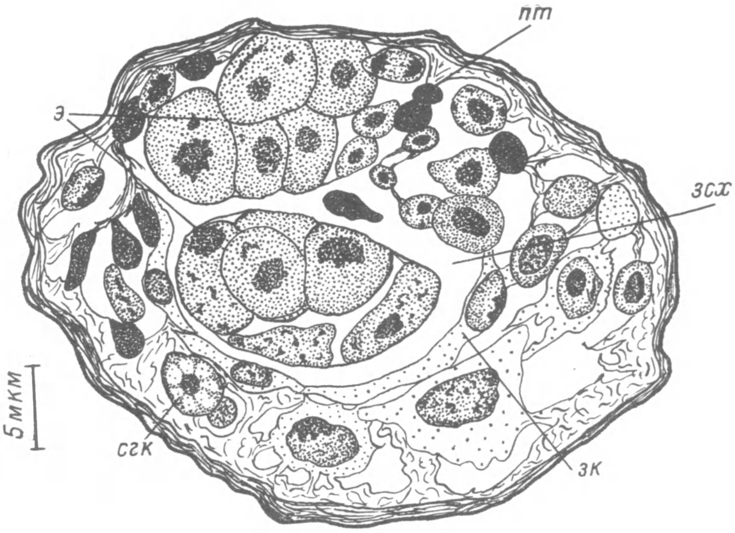

Рис. 1. Поперечный срез через тело 5-дневной материнской редии.

зк — звездчатая клетка; *зсх* — зачаток схизоцеля; *пт* — пикнотические тельца; *сгк* — свободная генеративная клетка; *э* — эмбрион.

Fig. 1. Transverse section of the body of 5-day old maternal redia.

люсков и партенит изучали на парафиновых срезах толщиной 2—4 мкм, окрашенных различными гематоксилинами. Тотальные препараты окрашивали квасцовым кармином.

Операции по трансплантации редий от зараженных моллюсков к незараженным проводили с помощью дозатора ДЖ-10. Пересаживаемые редии предварительно отмывались в физиологическом растворе. После пересадки отверстие в раковине моллюска-реципиента заполняли медицинским клеем КЛ-3.

РЕЗУЛЬТАТЫ

После выхода из тела мирацидия и прохождения через покровы моллюска молодая материнская редия попадает в лакунарную систему последнего, а затем по кровеносной системе достигает места окончательного поселения — сердца моллюска. Обычно партениты поселяются в желудочке или начальных участках главных аорт. При большой интенсивности начального заражения некоторые особи поселяются и в предсердии. В сердце моллюска средних размеров может нормально развиваться до 8 материнских редий. Если интенсивность инвазии выше, то часть редий не заканчивает своего развития (подробнее см. ниже).

Через 5—6 дней материнские редии достигают в длину 70—80 мкм (в момент выхода из тела мирацидия они вдвое меньше). Уже на этом этапе развития отчетливо прослеживаются признаки дегенерации паренхимы (рис. 1). В результате специализации части клеток образуются характерные звездчатые клетки, обладающие плотным ядром и сильно разветвленными цитоплазматическими отростками. Появляются и пикнотические тельца, но количество их пока невелико. 15—20 клеток, однако, явно становятся на путь пикнотизации ядер: их небольшие часто неправильной формы ядра с плотно упакованным хроматином окружены тонким слоем базофильной цитоплазмы. В теле молодой редии свободно располагаются 10—15 зрелых генеративных клеток. Они имеют крупные размеры и пузырьковидное ядро. Их закладка пока еще не приурочена

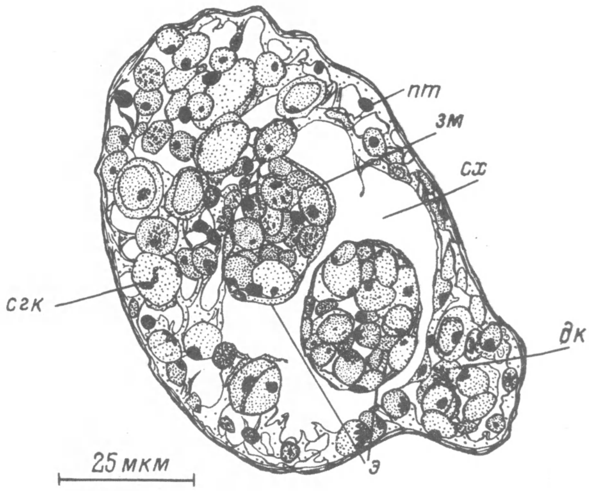

Рис. 2. Срез через тело 20-дневной материнской редии.

дк — делящаяся клетка; *зм* — зародышевая мембрана; *сх* — схизоцель. Остальные обозначения такие же, как на рис. 1.

Fig. 2. Section of the body of 20-day old maternal redia.

к каким-то определенным участкам тела редии. Число эмбрионов дочерних редий достигает 2—3. Одновременно с развитием этих эмбрионов вокруг них формируются небольшие зародышевые полости, выстланные цитоплазматическими отростками звездчатых клеток. Совокупность таких микрополостей представляет собой зачаток схизоцеля.

К 20-му дню размеры редий вновь удваиваются: их длина достигает 140—160 мкм. Пикнотические тельца встречаются теперь по всему телу материнской редии. Количество эмбрионов увеличивается до 5 (рис. 2).

Выше уже было сказано, что при высокой интенсивности начального заражения моллюска часть редий не заканчивает своего развития. Это хорошо проявляется при достижении ими возраста 40—45 дней. Такие особи проходят лишь первые этапы роста, иногда в них закладываются и эмбрионы, однако в дальнейшем нормальное развитие приостанавливается (рис. 3). Соматическая ткань быстро дегенерирует, интенсивнее, чем обычно идет образование пикнотических телец. В большом количестве формируются мембрановидные пластинчатые структуры, что также свидетельствует о чрезмерном ускорении дегенерации паренхимы. Эмбрионы останавливаются на первых этапах дробления и постепенно разрушаются.

При меньшей интенсивности инвазии к 45 дням процесс дегенерации паренхимы приводит к формированию схизоцелия, единого для нескольких эмбрионов (рис. 4). В редких случаях у редий этого возраста встречаются ярко окрашивающиеся гистологическими красителями клеточные массы, заметно отличающиеся по своей структуре от окружающей паренхимы (рис. 5). Ниже мы подробнее остановимся на описании подобных участков.

Паренхима 50-дневной редии занимает уже пристеночное положение, окружая единый схизоцель довольно толстым слоем. В зародышевой полости находятся 4—5 эмбрионов, еще связанных между собой и с остатками паренхимы пластинчатыми структурами — цитоплазматическими выростами сильно редуцированных звездчатых клеток.

У 60-дневной материнской редии паренхима сохраняется в оформленном виде лишь в концевых участках тела. Исчезают пластинчатые структуры, ранее

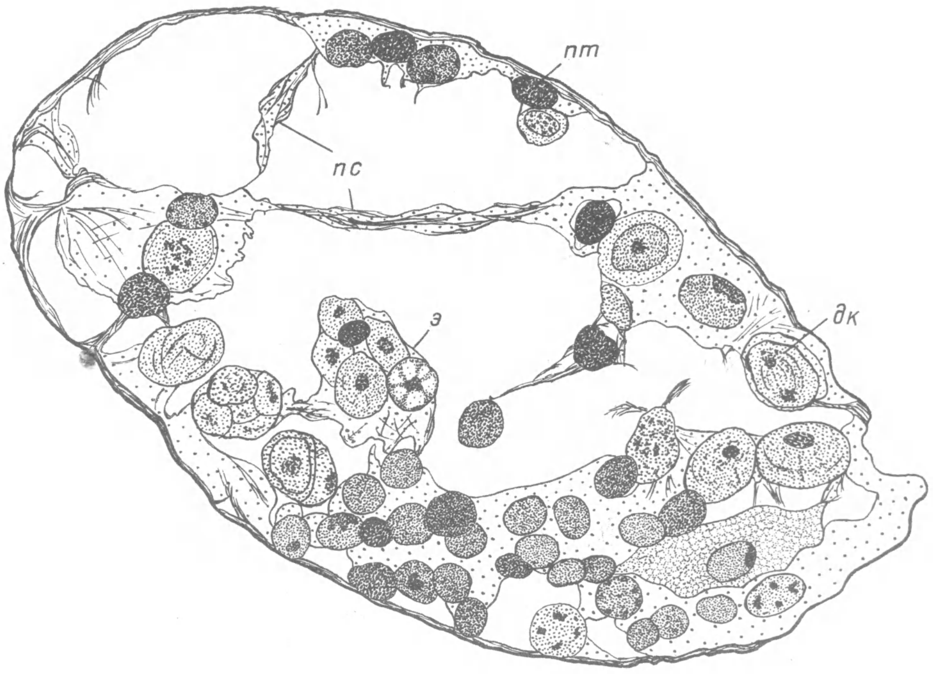

Рис. 3. Срез через тело 40-дневной материнской редии, нормальное развитие которой нарушено высокой интенсивностью заражения моллюска-хозяина.

Обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Fig. 3. Section of the body of 40-day old maternal redia, the normal development of which is disturbed by a high intection intensity of the mollusc-host.

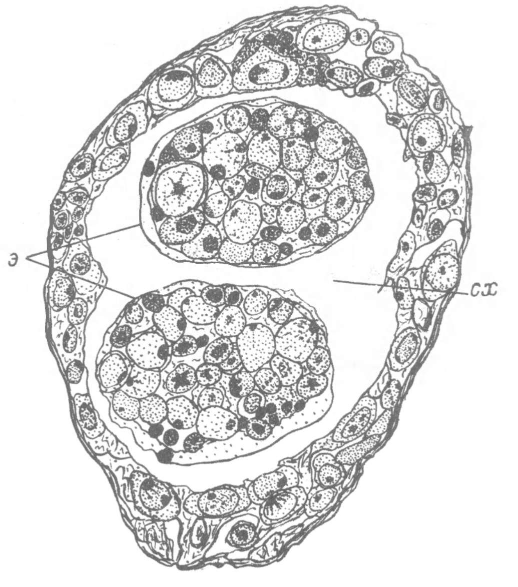

Рис. 4. Срез через тело материнской редии в возрасте 40 дней.

Обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Fig. 4. Section of the body of 40-day old maternal redia.

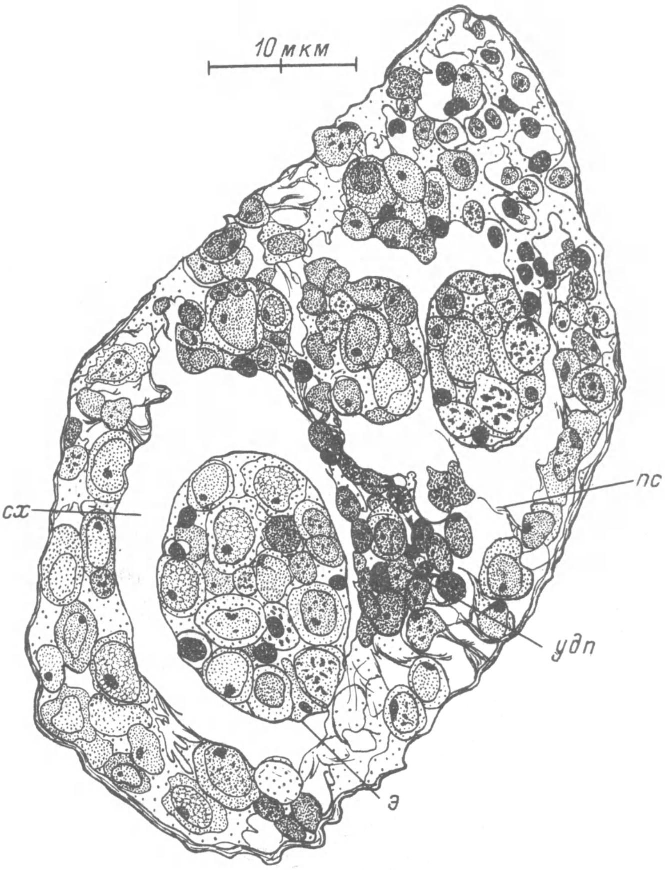

Рис. 5. Срез через тело 40-дневной материнской редии в области участка дегенерирующей паренхимы.

удп — участок дегенерирующей паренхимы.
Остальные обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Fig. 5. Section of the body of 40-day old maternal redia in the field of degenerating parenchima.

поддерживавшие эмбрионы. 2—3 зародыша дифференцированы уже настолько, что в них можно различить зачатки основных органов дочерних редий — глотки, кишки.

В возрасте 70 дней материнская редия освобождается от этих зародышей, значительно опережающих в своем развитии остальных. После этого в процессе отрождения особей дочернего поколения наступает перерыв, продолжающийся до окончательного формирования остальных эмбрионов.

Через 90 дней после заражения материнские редии достигают предельных размеров (свыше 900 мкм в длину и около 300 в диаметре). Они снова приступают к отрождению особей дочерней генерации и больше в этом процессе перерывов не бывает. Еще через 2—3 мес размножение материнских редий заканчивается, и дальнейшая их судьба не отражается на процессе формирования микрогемипопуляции в целом.

Формирование герминального материала дочерних редий начинается еще до их отрождения (рис. 6). За счет дифференциации свободных генеративных клеток образуются зародыши, внучатые по отношению к материнской редии. Вокруг них также формируются небольшие полости, которые, сливаясь, постепенно образуют единый схизоцель. В отдельных зародышах можно обнаружить

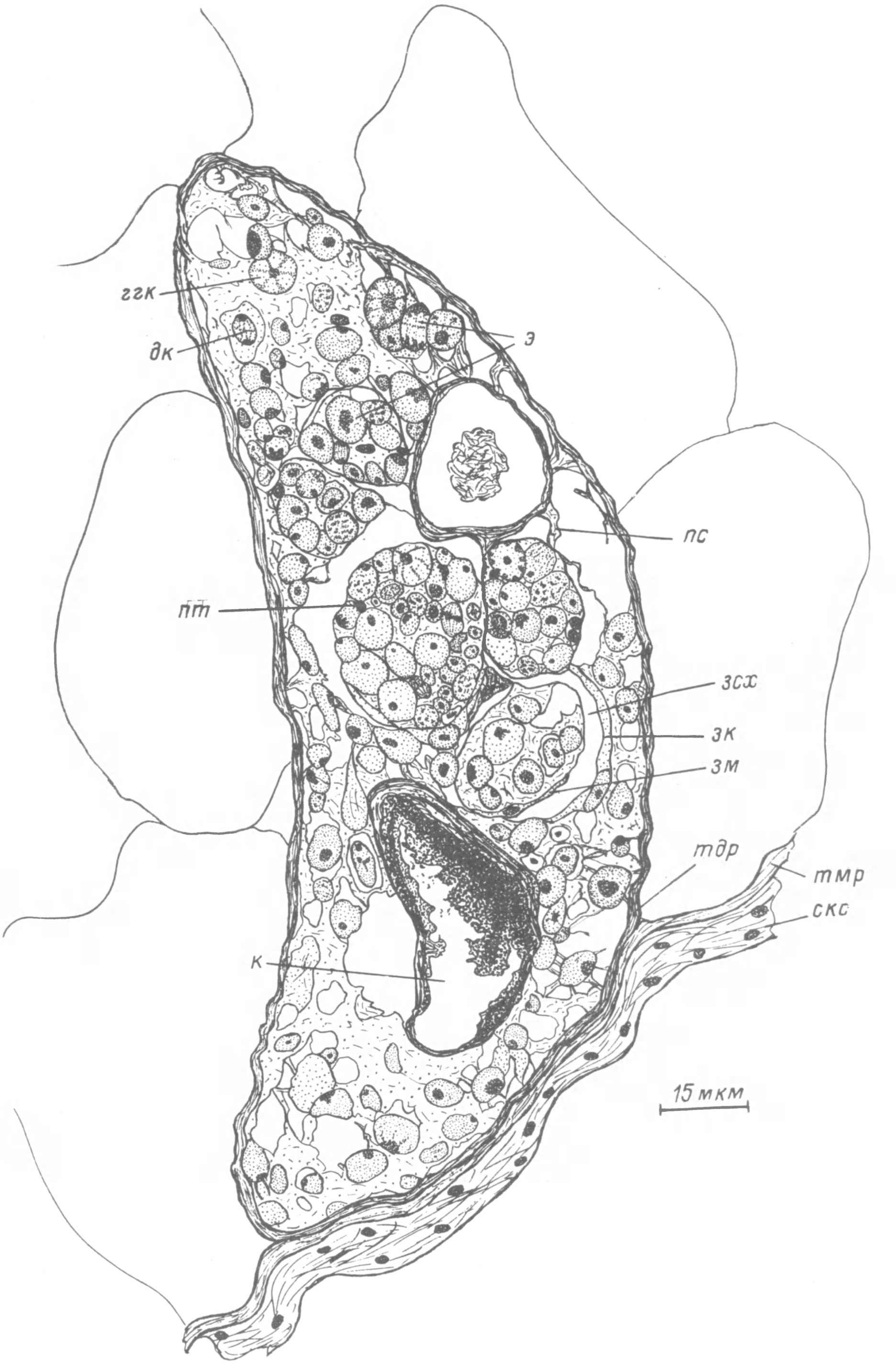

Рис. 6. Зрелый эмбрион дочерней редии в схизоцеле 90-дневной материнской редии (фрагмент среза).

ггк — генеративная клетка в составе герминальной массы; *к* — кишка; *скс* — стенка кровеносного сосуда; *тдр* — тугемент дочерней редии; *тмр* — тегумент материнской редии. Остальные обозначения такие же, как на рис. 1 и 2.

Fig. 6. Mature embryo of daughter redia in schizocoel of 90-day old maternal redia (fragment of the section).

эмбрионы, являющиеся правнучатыми по отношению к материнской редии. Готовые к выходу дочерние редии содержат хорошо оформленную герминальную массу типичного строения.

Первые из отрожденных дочерних редий далеко не отходят от места поселения материнских редий. Постепенно партениты плотно заполняют центральные участки артериальной кровеносной системы, и вновь отрождаемые вынуждены все дальше и дальше отходить от «центра инвазии». Сначала расселение идет по аортам, причем основная масса партенит направляется по висцеральной аорте. Часть из них закрепляется на стенках аорты, часть же перемещается по желудочной артерии, отходящей в области пересечения висцеральной аорты и кишки. Большинство особей доходит по аорте до гонады и далее до самой вершины внутренностного мешка. По мере приближения к верхушке возрастает количество редий, попадающих в сосуды, которые направляются к печени и гонаде. Таким образом, плотное заселение гепатопанкреаса начинается с вершины внутренностного мешка. Мелкие сосуды быстро переполняются паразитами, что вынуждает редий покидать кровеносную систему и продвигаться на поверхность гепатопанкреаса. Вначале они располагаются параллельно покровам внутренностного мешка. Позднее многие особи уходят в более глубокие слои печени, и со временем последняя заселяется полностью.

В процессе колонизации организма хозяина все большее число редий начинает отрождать церкарий. Личинки достигают анальной папиллы, где в дальнейшем и происходит их выход во внешнюю среду.

С переходом части редий к отрождению церкарий не прекращается процесс пополнения микрогемипопуляции все новыми и новыми молодыми редиями *n*-х генераций. Результаты наших исследований подтверждают данные других авторов о способности только молодых редий к отрождению себе подобных (Тихомиров, 1980). Опыты по пересадке партенит разных возрастов в незараженных моллюсков однозначно показали, что редии, вставшие на путь отрождения церкарий, в дальнейшем способны продуцировать только их и не могут вернуться к отрождению партенит.

В ходе этой серии экспериментов дочерние редии, схизоцель которых был заполнен эмбрионами церкарий, пересаживались в гепатопанкреас неинвазированных моллюсков. В дальнейшем такие редии далеко не отходили от места инокуляции. Всего за две недели из моллюска, зараженного 6 редиями, вышло 18—20 церкарий. Через 3—5 недель после пересадки трансплантированные редии погибали. При пересадке редий в другие отделы тела моллюска они начинают мигрировать, но через несколько дней погибают. Лишь изредка удается наблюдать выход единичных личинок из таких моллюсков. Осуществить пересадку дочерних редий, содержащих редиоидные эмбрионы, не удалось — паразиты во всех случаях погибали.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты позволяют, на наш взгляд, предположить следующую схему развития микрогемипопуляций редий *Ph. rhionica* (рис. 7). Материнские редии способны отрождать только дочерних редий, развивающихся из свободных генеративных клеток. Дочерние редии 1-й генерации также вначале отрождают партенит, формирующихся из свободных генеративных клеток, а затем могут переходить к отрождению церкарий. Размножение дочерних редий 2-й и последующих генераций сходно с размножением дочерних редий 1-й генерации. Отличие заключается в том, что они отрождают меньшее количество редий и скорее переходят к продуцированию церкарий. Следовательно, наибольшее число партенит формируется в материнских редиях, несколько меньше —

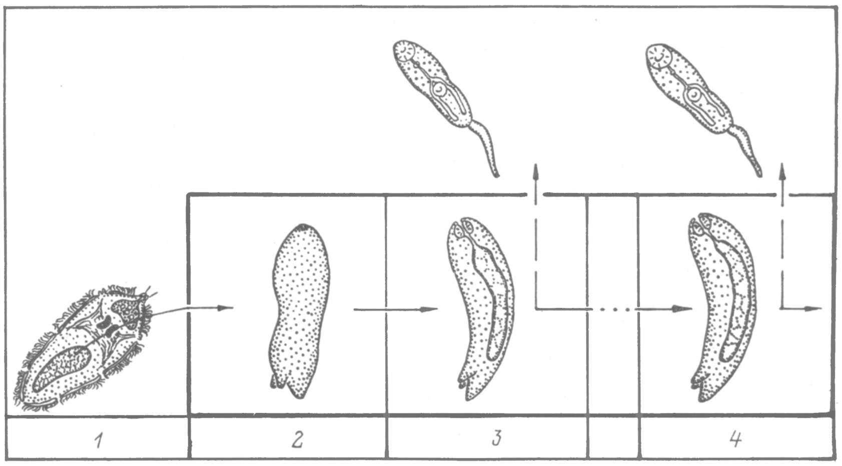

Рис. 7. Схема развития микрогемипопуляции партенит в моллюске.

1 — педогенетический мрацидий; *2* — материнская редия (отрождает только редий); *3* — дочерняя редия I генерации (возможен переход к отрождению церкарий); *4* — дочерняя редия *n*-й генерации (после отрождения нескольких редий переходит к отрождению церкарий).

Fig. 7. Scheme of the development of microhemipopulation of parthenites in mollusc.

в дочерних редиях 1-й генерации, а в дочерних редиях 2-й и последующих генераций их число минимально. Было замечено, что в этом же ряду уменьшается и общее количество свободных генеративных клеток. Сопоставление этих данных позволяет предположить, что редиоидные эмбрионы развиваются именно из свободных генеративных клеток, а эмбрионы церкарий формируются из половых клеток, входящих в состав герминальной массы.

В пользу такого предположения говорят также следующие данные.

1. Во взрослых дочерних редиях свободные генеративные клетки не обнаружены. Не удается обнаружить в них и редиоидные эмбрионы. Они содержат в своем схизоцеле только эмбрионы церкарий, и никакие факторы не могут изменить такого положения (Атаев, 1988). В то же время в состав зрелой микрогемипопуляции всегда входят молодые дочерние редии, в которых можно обнаружить и генеративные клетки, и эмбрионы, развивающиеся вне герминальной массы.

2. Результаты экспериментов по трансплантации разновозрастных редий в незараженных моллюсков подтвердили ранее установленную необратимость перехода партенит от отрождения редий к отрождению церкарий.

3. Расположение редиоидных эмбрионов в молодых редиях всех генераций достаточно хаотично. Они образуются в разных участках тела редий, и нет явной зависимости между размерами зародышей и их локализацией. В то же время в редиях, уже перешедших к отрождению церкарий, герминальный материал располагается в виде ранжированного ряда — ближе к герминальной массе находятся зародышевые шары меньших размеров, а по мере приближения к родильной поре увеличиваются и величина, и степень дифференциации эмбрионов.

Результаты наших исследований позволяют критически отнестись к трактовке цикла половых клеток, предложенной Калилой и Кэйблом (Khalil, Cable, 1968) и частично поддержанной Добровольским с соавт. (1983). Эти авторы доказывали наличие сходства процессов «созревания» генеративных клеток партенит и яйцеклеток в яичнике мариты, что подтверждало, на их взгляд, половую природу генеративных клеток. Согласно их данным, пропагативная клетка, отделяющаяся на ранних этапах дробления, не дает непосредственно начала генеративным клеткам. Последние возникают из первичных оогониев (Добровольский и др., 1983). Более того, Добровольскому с соавторами удалось обнаружить «половой зачаток» у молодых материнских редий *Ph. rhionica.*

Полученные нами данные не подтвердили наличия у материнских редий *Ph. rhionica* «полового зачатка». Выше уже говорилось, что у 40—45-дневных материнских редий иногда встречаются клеточные массы, структурно отличающиеся от окружающей паренхимы. Судя по описаниям и иллюстрациям, именно эти участки, внешне сходные с половым зачатком церкарий, и рассматривались ранее как «половой зачаток» редий (Добровольский и др., 1983).

По-видимому, возникновение подобных образований у развивающихся материнских редий можно объяснить следующим образом. Формирование зародышей и окружающих их полостей схизоцеля иногда значительно опережает процесс дегенерации паренхимы. Участок (или участки) последней в подобных случаях может оказаться «зажатым» между развивающимися эмбрионами и препятствует образованию единой зародышевой полости. Составляющие его клетки подвергаются медленной дегенерации, что проявляется в уплотнении и ядер, и цитоплазмы. В большом количестве появляются пикнотические тельца. Со временем, однако, ядра резорбируются, клеточные тела постепенно замещаются пластинчатыми структурами, и все это образование, в конце концов, разрушается (рис. 5).

Указанные выше сроки развития партенит *Ph. rhionica* были получены в рамках одной серии экспериментов. Результаты многочисленных наблюдений показали, что на развитие партенит и формирование микрогемипопуляции оказывают влияние различные факторы, определяющие темпы и характер этих процессов (Атаев, 1988). Сам процесс становления микрогемипопуляции партенит *Ph. rhionica* достаточно отчётливо разделяется на 4 периода:

1. Миграционный период. В течение этого периода молодые материнские редии достигают места своего окончательного поселения — сердца или начальных участков главных аорт моллюска-хозяина.

2. Период роста, на протяжении которого материнские редии интенсивно растут, а в них идет формирование первых дочерних редий. На этом этапе роста численности группировки паразитов в хозяине не происходит. Заканчивается этот период отрождением первых редий следующей генерации.

3. Период расселения, на протяжении которого дочерние редии расселяются по всему организму моллюска-хозяина, причем большая их часть скапливается в области гепатопанкреаса. К концу этого периода появляются первые церкарии.

4. Период зрелости микрогемипопуляции. Длится с начала эмиссии церкарий до гибели хозяина. Важно отметить, что в начале этого периода, как правило, погибают материнские редии, после чего микрогемипопуляцию составляют только дочерние редии разных генераций.

Список литературы

Атаев Г. Л. Развитие и биология личинок и партеногенетических поколений трематод Philophthalmus rhionica Tichomirov, 1976: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1988. 16 с.

Добровольский А. А., Галактионов К. В., Мухамедов Г. К., Синха Б. К., Тихомиров И. А. Партеногенетические поколения трематод // Тр. ЛОЕ. Л. 1983. Т. 82, вып. 4. 107 с.

Тихомиров И. А. Жизненный цикл сосальщика Philophthalmus rhionica Tichomirov, 1976 (Trematoda, Philophthalmidae): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л., 1980. 20 с.

Khalil G. M., Cable R. M. Germinal development in Philophthalmus megalurus (Cort, 1914) (Trematoda, Digenea) // Z. Parasitenk. 1968. B. 31. S. 211—231.

Ленинградский педагогический
институт; ЛГУ

Поступила 28.03.1989

DEVELOPMENT OF MICROHEMIPOPULATION OF PARTHENITES OF THE TREMATODE PHILOPHTHALMUS RHIONICA

G. L. Ataev, A. A. Dobrovolsky

Key words: *Philophthalmus rhionica*, parthenites, microhemipopulation, germinal material

SUMMARY

The development of microhemipopulation of parthenites of the trematode *Philophthalmus rhionica*, parasitic in *Melanopsis praemorsa* molluscs, is studied. The ways of migration of maternal and distribution of daughter rediae in the host are ascertained and the formation of germinal material of parthenites of different generations is examined in detail. Redioid embryos are suggested to develop from generative cells, distributed diffusely in the parenchyma of parthenites (free generative cells) and embryos of cercariae are formed from generative cells, which are components of germinal mass.